昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, June 2015, 58(6): 665 - 672　　doi:10.16380/j.kcxb.2015.06.011

意大利蜜蜂对两种油菜花朵气味的偏爱性

罗文华[1]，程　尚[1]，曹　兰[1]，邵有全[2]，张旭凤[2]，高丽娇[1]，
郭　军[1]，戴荣国[1]，王瑞生[1]，刘佳霖[1,*]

(1. 重庆市畜牧科学院，重庆荣昌 402460；2. 山西省农业科学院园艺研究所，太原 030031)

摘要：【目的】明确意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*(简称“意蜂”)对两种油菜(甘蓝型胜利油菜 *Brassica napus* cv. Shengli 和芥菜型马尾油菜 *B. juncea* cv. Mawei)的气味偏爱性及选择行为特征。【方法】本研究开展大田访花偏爱性试验、室外群体气味偏爱性试验以及室内“Y”型嗅觉仪行为反应和学习记忆试验，测定意蜂蜂群及青年采集蜂对甘蓝型胜利油菜和芥菜型马尾油菜两种油菜花朵的选择次数，并通过采集蜂训练时及训练后的喙伸反应率分析两种油菜花朵气味对采集蜂学习记忆能力的影响，最终评估意蜂蜂群及个体对这两种油茶花朵气味的选择性。【结果】大田试验 12:00 - 13:00 时间段，访问胜利油菜的意蜂数量显著高于访问马尾油菜的数量($P<0.05$)。群体气味偏爱性试验 14:00 - 15:00 时间段意蜂访问胜利油菜的数量显著高于访问马尾油菜的数量($P<0.05$)。行为反应试验结果显示意蜂选择胜利油菜的次数(3.86 ± 2.83)显著高于访问马尾油菜的次数(2.28 ± 1.87)($P<0.05$)。在学习记忆试验中，随着训练次数的增加，意蜂对两种油菜花朵气味的喙伸反应率逐渐升高，相同的训练次数，意蜂对两种油菜气味的学习能力差异不显著($P>0.05$)；训练结束后，随着时间的增加，意蜂对胜利油菜及马尾油菜的气味记忆逐渐下降，在 24 h 对胜利油菜的气味记忆明显高于对马尾油菜的气味记忆($P<0.05$)。【结论】本研究证明意蜂较偏爱胜利油菜的花朵气味，花朵气味是影响其采集偏爱的重要因素，气味响应性试验可定量分析蜜蜂对花朵气味的嗅觉敏感性。

关键词：意大利蜜蜂；访花行为；胜利油菜；马尾油菜；花朵气味；行为趋性

中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2015)06-0665-08

Preference of *Apis mellifera ligustica* to flower odours of two rapes (*Brassica napus* cv. Shengli and *B. juncea* cv. Mawei)

LUO Wen-Hua[1], CHENG Shang[1], CAO Lan[1], SHAO You-Quan[2], ZHANG Xu-Feng[2], GAO Li-Jiao[1], GUO Jun[1], DAI Rong-Guo[1], WANG Rui-Sheng[1], LIU Jia-Lin[1,*] (1. Chongqing Academy of Animal Sciences, Rongchang, Chongqing 402460, China; 2. Institute of Horticulture, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: 【Aim】The objective of this research is to reveal the odour preference and pollinating behavior characteristics of the Italian honeybee, *Apis mellifera ligustica* for two rapes, *Brassica napus* cv. Shengli and *B. juncea* cv. Mawei. 【Methods】We conducted the field test of foraging preference, the odour preference test in colonies outdoors, and the olfactory response test with “Y” olfactometer and learning-memory test in the laboratory to evaluate the selective preference of *A. mellifera ligustica* colonies and foragers for flowers of the two rapes and analyze the memory and learning ability of *A. mellifera ligustica* foragers by proboscis extension response in training and after training. 【Results】The number of *A. mellifera ligustica* bees visiting *B. napus* cv. Shengli flowers was significantly higher than that visiting *B. juncea* cv. Mawei during 12:00 - 13:00 in the field test ($P<0.05$), as well as during 14:00 - 15:00 ($P<0.05$) in the colony odour preference test. The selecting number of *A. mellifera ligustica* bees to *B. napus* cv. Shengli flowers odour was significantly higher than that to *B. juncea* cv. Mawei flower odour in

基金项目：公益性行业(农业)科研专项课题(201203080-8-10)；国家现代农业(蜜蜂)产业技术体系建设专项(CARS-45-SYZ15)；重庆市农发资金项目(14424)

作者简介：罗文华，男，1966 年生，四川内江人，副研究员，研究方向为蜜蜂授粉技术，E-mail：270918628@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：liujialin2012@qq.com

收稿日期 Received：2015-02-14；接受日期 Accepted：2015-04-30

the "Y" olfactometer test ($P < 0.05$). Learning of *A. mellifera ligustica* bees treated with odours of two rapes was not significantly different ($P > 0.05$), but the odour memory of *A. mellifera ligustica* bees to *B. napus* cv. Shengli was significantly higher than that to *B. juncea* cv. Mawei in the 24 h memory test. 【Conclusion】This research suggests that *A. mellifera ligustica* has a preference for visiting *B. napus* cv. Shengli. The odour of flowers is an important factor affecting foraging preference of *A. mellifera ligustica*. The test of odour response can be used for the quantitative analysis of olfactory sensitivity in honeybees.
Key words: *Apis mellifera ligustica*; foraging behavior; *Brassica napus* cv. Shengli; *Brassica juncea* cv. Mawei; flower odour; behavioral preference

昆虫的授粉行为十分复杂,在访花的过程中会出现一定的偏爱性,而偏爱性对昆虫的授粉效果具有很大的影响(Bosch *et al*., 1997)。显花植物在与授粉昆虫长期的协同进化中,逐渐形成了能够吸引传粉昆虫的形态特征,不同种类的显花植物,花部构成及形态各不相同,它们是决定传粉昆虫访花偏爱性的重要因素(Hill *et al*., 2001; 官昭瑛等, 2005; 施海燕等, 2008)。目前,花的气味、大小、形状、颜色及奖励物质被广泛肯定为是影响授粉昆虫访花偏爱性的主要因素(Buchmann and Cane, 1989; Johnson *et al*., 1995; Wright *et al*., 2002; Harder *et al*., 2004; Johnson *et al*., 2004; Gegear and Laverty, 2005; Huang *et al*., 2006; Sun *et al*., 2008)。而奖励物质与花部构成相比,可能对昆虫的访花偏爱性具有更大的影响,量多质好的奖励物质能够更好地吸引传粉昆虫(Thomson *et al*., 1982; Thomson, 1986)。显花植物的花朵气味也是影响传粉昆虫访花偏爱性的重要因素之一(官昭瑛等, 2005)。传粉昆虫通常具有较强的气味识别能力,发达的嗅觉系统能够特异性识别空气中的化学气味分子,并对气味信息做出反馈,引导昆虫的各种重要行为(巩中军等, 2008; 黄恩炯等, 2008)。蜜蜂至少能够识别700余种不同的花香,同时根据不同的花粉香味,区分显花植物的种类(钦俊德和王琛柱, 2001)。目前,蜜蜂嗅觉系统的研究主要集中于触角电位、学习记忆能力、选择偏爱性及嗅觉受体等方面(Wanner *et al*., 2007; Luo *et al*., 2013; Wang and Tan, 2014),这些研究多采用单一的方法评价蜜蜂对不同气味物质刺激的表现,并没有从不同层次分析气味物质对蜜蜂个体及群体的影响。

研究意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*(简称"意蜂")的访花行为及气味偏爱性不仅可以优化该品种蜜蜂的商业化授粉技术,提高蜜蜂对目标作物的授粉效率;同时还能拓宽蜜蜂嗅觉行为的研究,为传粉生态学及生物进化学提供理论基础。区别于前人采用单一的方法评价蜜蜂的偏爱性(Buchmann and Cane, 1989; Johnson *et al*., 1995; Wright *et al*., 2002; Harder *et al*., 2004; Johnson *et al*. 2004; Gegear and Laverty, 2005; Huang *et al*., 2006; 施海燕等, 2008; Sun *et al*., 2008),本研究选用意蜂 *A. mellifera ligustica* 为试验材料,参考并借鉴前人的研究,采用单因素、多层次的偏爱性研究方法,引入意蜂对花朵气味的响应性试验,开展大田试验、群体气味偏爱性、行为反应及学习记忆试验,分析了意蜂蜂群及个体青年采集蜂对不同品种油菜花朵气味的选择偏爱性,比较蜜蜂对甘蓝型胜利油菜 *Brassica napus* cv. Shengli 及芥菜型马尾油菜 *B. juncea* cv. Mawei 的访花行为,评价气味因素对意蜂访花偏爱性的影响。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫和植物

1.1.1 供试昆虫:意大利蜜蜂 *A. mellifera ligustica* 由重庆市畜牧科学院蜂业研究所提供,自然条件下现代活框饲养,饲养地区年平均温度 16 ~ 18℃,年平均相对湿度 70% ~ 80%,蜂群管理水平一致,健康无病,品种统一,供试蜂群在试验开始前未接触试验油菜。

1.1.2 供试植物:甘蓝型胜利油菜 *B. napus* cv. Shengli 及芥菜型马尾油菜 *B. juncea* cv. Mawei,分别属于十字花科(Cruciferae)芸苔属欧洲油菜 *B. napus* L. 及十字花科芸苔属芥菜 *B. juncea* L.,两种油菜花朵均为黄色,花部构成基本一致,在重庆市荣昌县周边种植面积广、数量大,是春季的首个主要蜜源植物,能够为本试验提供充足的样方材料。试验油菜种植于重庆市荣昌县昌元街道螺罐村,植株生长良好,水平一致,在盛花期分别采集完全盛开的胜利油菜及马尾油菜花朵各 500 g,去除杂叶及花梗,取花部构成完整的花朵放入 50 mL 离心管,置于冰

盒保鲜，在实验室中放入 4℃ 冰箱保存备用。

1.2　试验场地

1.2.1　大田试验：2013 年 3 月底，于重庆市荣昌县昌元街道螺罐村设置放蜂点，配置 160 群试验意蜂。在放蜂点 1 km 范围内寻找合适的试验场地。场地要求具有甘蓝型及芥菜型两个不同品种的油菜。试验前 7 d，禁止在试验田内喷洒化学药剂，施用化肥，避免外源物质的气味污染。

1.2.2　群体气味偏爱性试验：2013 年 4 月初在重庆市畜牧科学院院区内进行，试蜂品种与大田试验一致，试验场周边没有大宗蜜源供蜂群采集，主要通过人工饲喂维持蜂群发展。

1.2.3　气味偏爱性、行为反应及学习记忆试验：于 2013 年 4 月在重庆市畜牧科学院蜂业研究所实验室内进行，试蜂品种与大田试验一致。

1.3　大田试验

试验蜂场位于放蜂点南方约 800 m 处，样区间距 15 m，试验期间两种油菜均处于盛花期，天气晴朗，间断性微风。试验开始前，在油菜田中随机选取一块 1 m × 1 m 的试验区域进行标记。每天从 10:00 - 16:00，每小时记录 10 min 内来访试验区域的意蜂数量。试验重复 3 次，试验期间周围环境日平均温度 26℃ ~ 28℃，日平均相对湿度 60% ~ 65%，日平均光照 60 ~ 80 klx。

1.4　气味响应性试验

气味响应性试验参考嗅觉敏感性实验方法（宋怀磊等, 2011）。通过分析意蜂对油菜花朵气味的嗅觉敏感性，确定对试蜂具有相同气味响应性的油菜花朵添加量，为群体气味偏爱性、行为反应以及学习记忆试验提供基础数据及味源物质处理方法，保证后续试验的科学性及可行性。

固定蜜蜂：选取体色、个体大小基本一致的外出青年采集蜂固定于支架内（支架由 1.5 mL 离心管及小口径吸管制成），试蜂仅留头部露出，固定结束后，试蜂饥饿处理 6 h。

味源滤纸片制备：称取 0, 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 和 4.5 g 花部构成完整的油菜花朵分别放入 20 mL 蒸馏水中浸泡 2 h，浸泡结束后将油菜花朵取出，浸液留存备用。试验开始前，将滤纸剪成直径为 2.5 cm 的圆形纸片投入浸液中完全浸泡 10 min，取出后去除纸片上多余水分，制成味源滤纸片。

气味响应性试验：分别取 0, 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 和 4.5 g 油菜花朵制备的味源滤纸片放入 100 mL 针筒底部，记为针筒 A；并将形状与大小一致的无味源滤纸片放入另外一只干净的 150 mL 针筒，记为针筒 B。将固定好的蜜蜂置于泡沫板上，采用针筒 B 向蜜蜂头部触角吹入空气气流 10 s，气流流速 15 mL/s；接着进行气味刺激 5 s，使用针筒 A 向蜜蜂头部触角引入气味源，气流速度 10 mL/s；气味刺激结束后，给予空气气流 5 s，流速 15 mL/s。在气味源引入期间观察试蜂对气味源的响应性，若蜜蜂发生喙伸反应（proboscis extension response, PER），则记为响应成功；反之，视为不成功。每组试验试蜂 25 头，重复 4 次，气味响应试验按照浓度递增原则进行，不同浓度气味刺激间隔 10 min。试验结束后进行数据分析，最终确定具有相同气味响应性的胜利油菜及马尾油菜试验组进行下一步试验。

1.5　群体气味偏爱性试验

蜂群训练：参考蜜蜂招引方法（王钰冲等, 2013），在蜂群门口放置装有 50% 蔗糖溶液的小型饲喂器，饲喂器旁设置标识物，待蜂群接受该饲喂器后，逐渐将饲喂器移动到距离蜂群 20 m 的位置，每次移动不能超过 1 m，待蜂群接受饲喂器后才能继续移动。

偏爱性试验：称取两种油菜花朵 35 g 浸泡于 200 mL 50% 的蔗糖溶液 2 h（花朵添加量及添加比例由气味响应性试验结果得出，该浓度下，意蜂对两种油菜花朵香味的气味响应性无显著差异），浸泡结束后将花朵取出，分装于 2 个饲喂器，平行摆放于距离蜂群 20 m 的训练采集点，待蜜蜂往返规律后，分别于 10:00 - 11:00, 11:00 - 12:00, 14:00 - 15:00及 15:00 - 16:00 4 个时间段计数 10 min 内来访的意蜂数量，每个时间段试验结束后需更换饲喂器左右位置，每组试验重复 3 次，试验期间周围环境日平均温度 25 ~ 27℃，日平均相对湿度 60% ~ 65%，日平均光照 60 ~ 80 klx，天气多云，微风。

1.6　行为反应试验

本试验参考传统的行为反应方法（高景林等, 2006; 王伟等, 2008）。在 2 个 100 mL 针筒中分别加入经过不同味源物质处理的滤纸片，味源滤纸片的制备方法同上，花朵添加量为每 20 mL 蒸馏水加 3.5 g（由气味响应性试验结果得出）。装入味源滤纸片后用无味的硅胶管分别与"Y"型嗅觉仪味源臂连接，外界空气经过味源滤纸片的处理，最终进入"Y"型管，气体流速 10 mL/s，整个装置需保证良好的气密性，防止外界气味污染。青年采集蜂饥饿处理 6 h 后从"Y"型嗅觉仪测试端放入，并熟悉管内环境 10 min，接着计数 5 min 内采集蜂对两种味源

的选择次数，每当采集蜂进入味源管侧臂 2/3 及以上位置，并停留超过 5 s 以上，则记作一次成功选择，当蜜蜂回到“Y”型管中部后即可进行重新选择。本试验重复 8 组，每组由 10 头青年采集蜂组成，每组试验需更换 3 次味源滤纸片，以保证味源刺激充足，每组试验结束后，需更换两个味源臂的左右位置进行下一组试验。

1.7 学习记忆试验

试蜂训练：参考 Couvillon 等(2010)和 Ciarlo 等(2012)的研究方法，在蜂群中选取体色及个体大小基本一致的青年采集蜂固定在支架内饥饿处理 6 h，在 100 mL 针筒中加入经过味源物质处理的滤纸片，花朵添加量为每 20 mL 蒸馏水加 3.5 g，并准备装有干净滤纸片的 150 mL 针筒。训练过程：引入空气气流 10 s；气味刺激 5 s；随后进行 3 s 的糖水奖励，蔗糖溶液浓度为 50%；奖励结束后引入空气气流 5 s，训练每 15 min 重复 1 次，共计 5 次。若试蜂对糖水奖励不反应，则将其剔除。每组训练试蜂 20 头，重复 3 组。

训练期间，在气味刺激 5 s 内，观察试蜂是否发生喙伸反应，评价意蜂对两种油菜气味的识别及学习能力；训练结束后 3, 6 和 24 h 测定试蜂对味源刺激的反应，评价蜜蜂对不同味源物质的记忆能力。

1.8 数据统计与分析

使用 Excel 2007 版和 SPSS16.0 进行数据整理及统计学分析，采用 χ^2 检验分析意蜂对两种油菜的访问次数差异；采用独立样本 *T* 检验及 One Way ANOVA 的 Dunnett *T*3 法对气味响应性及学习记忆试验中喙伸反应率的差异进行显著性分析。当 $P<0.05$ 时，差异达到显著水平；$P<0.01$ 时，差异达到极显著。

2 结果

2.1 意大利蜜蜂对两种油菜的大田访花偏爱性

大田访花偏爱性试验结果如图 1 所示，在整个试验期间，各时间段访问胜利油菜的意蜂数量均高于访问马尾油菜的数量；在 10:00－11:00 时间段，蜜蜂访问胜利油菜及马尾油菜的数量最少，到 15:00－16:00 时间段访问两种油菜的蜜蜂数量达到最大值，随后迅速减少；在 12:00－13:00($\chi^2=4.604$, $P<0.05$)时间段意蜂访问两个不同品种油菜的数量差异显著。

2.2 意大利蜜蜂对两种油菜花朵气味的响应性

气味响应性试验表明，随着花朵添加量的增加，

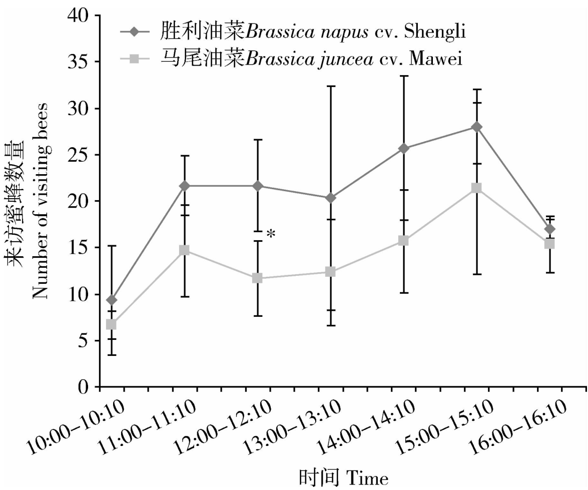


图 1 意大利蜜蜂对两种油菜的大田访花偏爱性

Fig. 1 Foraging preference of *Apis mellifera ligustica* for two kinds of rapes in the field

试验开始于 2014 年 3 月底，在重庆市荣昌县昌元街道螺罐村进行。星号表示同一时间两种油菜相比差异显著($P<0.05$)(χ^2 检验)。The field experiment was conducted at the end of March 2014, in Luoguan village, Changyuan Street, Rongchang, Chongqing. The asterisk indicates significant difference between cultivars at the same time at the 0.05 level (χ^2 test).

意蜂青年采集蜂对两种油菜的气味响应性也随之升高；花朵添加量为 0.5 g 时，意蜂对胜利油菜花朵气味的敏感性显著高于对马尾油菜花朵气味的敏感性($t=4.950$, $P<0.05$)，其后意蜂对两种油菜的气味响应性无显著差异($P>0.05$)，当两种油菜花朵添加量增加到 2.5 g 时，蜜蜂对两种油菜的喙伸反应率趋于稳定；在花朵添加量增加到 4.5 g 时，意蜂对胜利油菜及马尾油菜的响应性达到最大值，喙伸反应率分别为 57.3% 及 60.0%；意蜂对两种油菜相同花朵添加量的气味响应性组间差异不显著($P>0.05$)。因此，本试验选择气味响应性基本一致，且相对稳定的添加量即每 20 mL 蒸馏水加入 3.5 g 花朵为两种油菜花朵群体气味偏爱性、行为反应及学习记忆试验的味源物质添加量。

2.3 意大利蜜蜂对两种油菜的群体气味偏爱性

试验结果如图 2 所示，试验期间，访问两种油菜的蜜蜂数量随着时间的增加逐渐提高；10:00－12:00时间段内，访问马尾油菜的意蜂数量多于访问胜利油菜的数量，但差异不显著($P>0.05$)；而在 14:00－16:00 时间段内，访问胜利油菜的意蜂数量高于访问马尾油菜的数量，在 14:00－15:00($\chi^2=4.578$, $P<0.05$)时间段内差异显著。

表 1　意大利蜜蜂青年采集蜂对两种油菜花朵气味的响应性

Table 1　Proboscis extension reflex rates of *Apis mellifera ligustica* foragers stimulated with the odours of two rapes

花朵添加重量(g) Weight of flowers	喙伸反应率 Proboscis extension reflex rate(%)	
	胜利油菜 *Brassica napus* cv. Shengli	马尾油菜 *B. juncea* cv. Mawei
0	0.0 ±0.0 Aa	0.0 ±0.0 Aa
0.5	16.3 ±2.6 Ab	9.6 ±0.9 Bb
1.5	38.1 ±7.5 Ac	36.2 ±1.5 Ac
2.5	53.5 ±6.5 Acd	58.6 ±5.5 Ad
3.5	54.3 ±5.1 Acd	56.4 ±6.2 Ad
4.5	57.3 ±6.5 Ad	60.0 ±4.4 Ad

表中数据为均值 ± 标准差；数据后的大写字母表示横向比较，小写字母表示纵向比较，字母不相同表示差异显著（$P<0.05$，Dunnett *T*3 检验法及独立样本 *T* 检验）。Data in the table are mean ± *SD*, and those followed by different capital letters in a row and small letters in a column are significantly different at the 0.05 level, respectively (Dunnett *T*3 test and Independent sample *T* test).

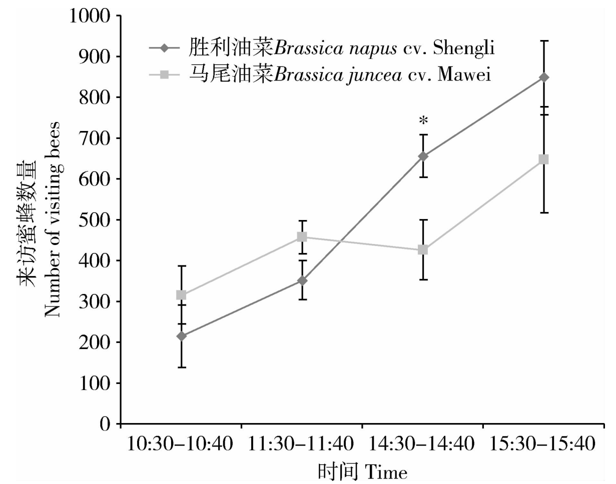


图 2　意大利蜜蜂对两种油菜的群体气味偏爱性

Fig. 2　Odour preference of *Apis mellifera ligustica* colony for two rapes

* 同一时间两种油菜相比差异显著（$P<0.05$）（χ^2 检验）Significant difference between cultivars at the same time at the 0.05 level (χ^2 test).

2.4　意大利蜜蜂对两种油菜花朵气味的选择趋性

行为反应试验结果如图 3 所示，意蜂青年采集蜂选择胜利油菜的次数（3.86 ±2.83）显著高于选择马尾油菜（2.28 ±1.87）（$\chi^2=5.496$，$P<0.05$）。

2.5　意大利蜜蜂对两种油菜花朵气味的学习与记忆

意蜂青年采集蜂对两种油菜花朵气味的学习试验结果如图 4 所示，随着训练次数的增加，蜜蜂对两种油菜气味的喙伸反应率逐渐提高；在相同的训练次数中，蜜蜂对两种油菜气味的学习能力差异不显著（$P>0.05$）。

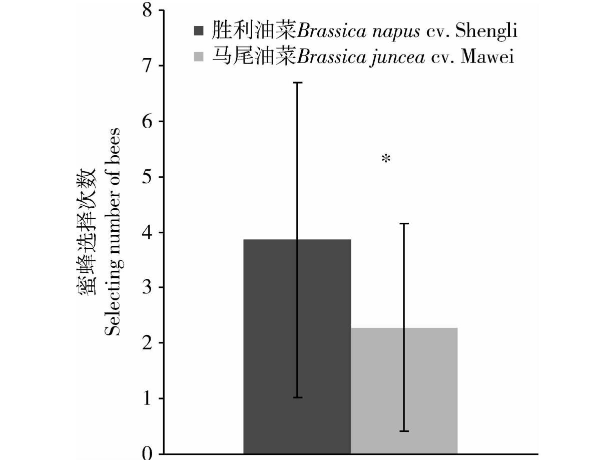


图 3　意大利蜜蜂青年采集蜂对两种油菜花朵气味的选择趋性

Fig. 3　Selective preference of *Apis mellifera ligustica* foragers for flower odours of two rapes

* 差异显著（$P<0.05$）（χ^2 检验）Significant difference between cultivars at the 0.05 level (χ^2 test).

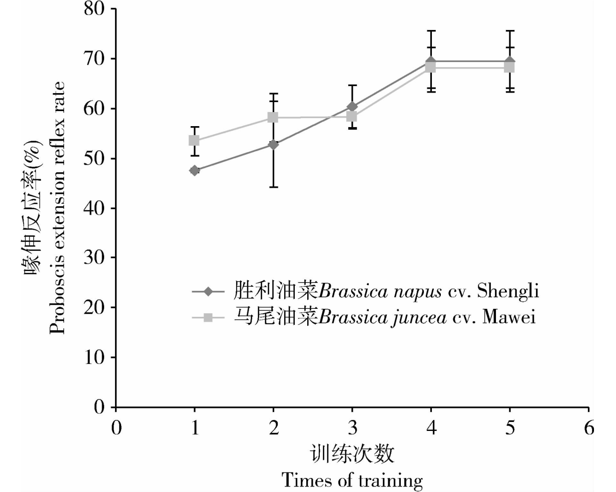


图 4　两种油菜花朵气味对意大利蜜蜂青年采集蜂学习能力的影响

Fig. 4　Influence of the flower odours of two rapes on the learning ability of *Apis mellifera ligustica* foragers

两种油菜花朵相比均无显著差异（$P>0.05$）（独立样本 *T* 检验）。No significant difference between cultivars at the 0.05 level (Independent sample *T* test).

意蜂青年采集蜂对两种油菜气味的记忆试验结果显示，试蜂在训练结束后，随着时间的增加，对胜利油菜及马尾油菜的气味记忆逐渐下降；3 h，6 h 及 24 h 3 个处理时间胜利油菜的喙伸反应率均高于对马尾油菜的喙伸反应率，随着时间的推移，意蜂对胜利油菜的记忆逐渐高于对马尾油菜的记忆，并在 24 h 表现出明显的差异（$t=3.409$，$P<0.05$）。

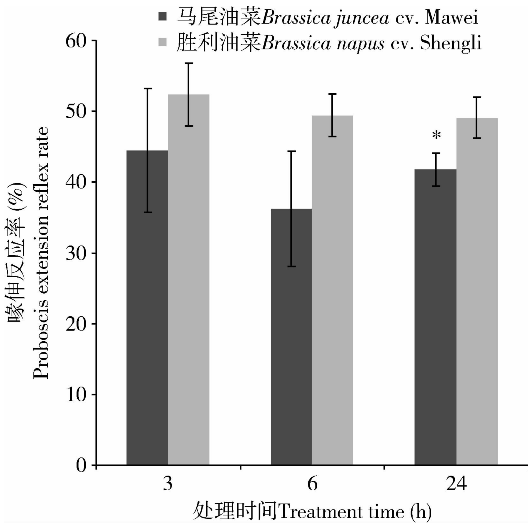


图 5 两种油菜花朵气味对意大利蜜蜂青年采集蜂记忆能力的影响

Fig. 5 Influence of the flower odours of two rapes on memory ability of *Apis mellifera ligustica* foragers

* 同一时间两种油菜相比差异显著($P<0.05$)(独立样本 *T* 检验)Significant difference between cultivars at the same time at the 0.05 level (Independent sample *T* test).

3 讨论

大田试验和群体气味偏爱性试验反映了意蜂蜂群对油菜花朵多因素及单因素的选择偏爱(Schmidt *et al*., 2003),是个体选择及信息交流共同作用的结果(陈盛禄, 2001; Toufailia *et al*., 2013),行为反应及学习记忆试验为采集蜂个体的单因素偏爱性试验。本研究的行为反应试验区别于传统的行为反应试验(高景林等, 2006; 王伟等, 2008),通过访问频率来研究意蜂采集蜂在"Y"型嗅觉仪中的选择行为,更加贴近蜜蜂的自然采集活动;而学习记忆试验可以进一步了解意蜂对油菜气味的行为反应及对大脑学习记忆能力的影响(Si *et al*., 2005; Frost *et al*., 2013)。大田试验、群体气味偏爱性试验及个体偏爱性试验结果一致表明:意蜂能够明显区分甘蓝型胜利油菜及芥菜型马尾油菜的花朵气味,并对胜利油菜的花朵表现出更加显著的访花偏爱性及气味偏爱性,由此可以推断,花朵气味也是决定意蜂访花偏爱的重要因素之一。本文结果与 Wright 等(2002)以及王伟等(2008)的研究一致,显花植物的花朵气味也是影响传粉昆虫访花偏爱性的重要因素,意蜂能够明显区分不同植物的花朵气味,并进行偏爱性选择。

花朵气味是由一系列低分子挥发性化合物产生的(孔滢等, 2012),不同亚种植物的花朵往往具有不同的挥发性物质组成(侯丹, 2014)。蜜蜂发达的嗅觉系统能够特异性识别花朵中的多种挥发性化合物,并对不同的气味刺激做出相应的偏好反应及趋避反应等行为(王伟等, 2008)。蜜蜂对花朵中不同的挥发性物质往往具有不同的触角电位学反应,而嗅觉刺激信号的差异也诱导蜜蜂做出了不同的行为选择(Wadhams *et al*., 1994; 王伟等, 2008; Luo *et al*., 2013)。同时,挥发性化合物产生的气味分子还能显著影响蜜蜂的学习记忆能力及采集能力,蜜蜂能够显著识别不同的挥发性化合物,并对该种化合物产生不同的学习记忆反应及采集行为(Laloi *et al*., 1999; Kunze and Gumbert, 2001; Wright *et al*., 2008)。结合本研究的试验结果推测,两种油菜花朵中不同的挥发性化合物组成是影响意蜂气味偏好性的主要因素,气味响应性试验是意蜂群体及个体气味偏好性研究的基础,能够定量分析意蜂对两种味源物质的嗅觉敏感性,可实际应用于蜜蜂对复杂气味的偏爱性研究。

为避免有机物质对味源物的影响,本研究选用蒸馏水制备花朵味源物质浸液,该方法不能完全提取花朵中脂溶性芳香类物质,造成味源成分不完全。下一步,采用更科学的方法完全提取花朵中的挥发性化合物,并避免外源气味的污染,是将授粉昆虫访花偏爱性研究从大田环境移入实验室的关键。使用气相色谱-质谱(GC-MS)分析两个品种油菜花朵气味的芳香物质组成(刘恩乾等, 2014),鉴定和分离影响蜜蜂气味偏好性的挥发性化合物将是下一步的研究方向。

蜜蜂对显花植物的选择偏爱不仅与花朵气味有关,还与植物的其他生理及外部形态特征密切相关,花朵颜色及大小、花蜜及花粉的蛋白质及糖含量也是决定蜜蜂访花行为的重要因素(Buchmann and Cane, 1989; Johnson *et al*., 1995; Harder *et al*., 2004; Johnson *et al*., 2004; Gegear and Laverty, 2005; Huang *et al*., 2006; Sun *et al*., 2008)。此外,环境因子及蜜蜂的行为反应也对访花偏好具有显著影响(Hill *et al*., 2001)。因此,综合分析显花植物不同生理性状对蜜蜂访花偏爱性的影响,评价显花植物蜜腺气味、奖励物质、花部构成及外界环境因子等不同因素对蜜蜂偏好性的影响程度,也是未来的研究重点。

参考文献（References）

Bosch J, Retana J, Cerdá X, 1997. Flowering phenology, floral traits and pollinator composition in a herbaceous Mediterranean plant community. *Oecologia*, 109(4): 583–591.

Buchmann SL, Cane JH, 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. *Oecologia*, 81(3): 289–294.

Chen SL, 2001. The Apicultural Science in China. China Agriculture Press, Beijing. 9, 27, 160–166.［陈盛禄, 2001. 中国蜜蜂学. 北京：中国农业出版社. 9, 27, 160–166］

Ciarlo TJ, Mullin CA, Frazier JL, Schmehl DR, 2012. Learning impairment in honey bees caused by agricultural spray adjuvants. *PLoS ONE*, 7(7): e40848.

Couvillon MJ, DeGrandi-Hoffman G, Gronenberg W, 2010. Africanized honeybees are slower learners than their European counterparts. *Naturwissenschaften*, 97(2): 153–160.

Frost EH, Shutler D, Hillier NK, 2013. Effects of fluvalinate on honey bee learning, memory, responsiveness to sucrose, and survival. *Journal of Experimental Biology*, 216(15): 2931–2938.

Gao JL, Zhao DX, Lu FP, Wang AP, Liao XH, 2006. EAG response of *Apis cerana cerana* to normal pesticides used in litchi garden. *Apiculture of China*, 57(12): 11–13.［高景林, 赵冬香, 卢芙萍, 王爱萍, 廖锡华, 2006. 中华蜜蜂对荔枝园常见化学农药的触角电位反应. 中国蜂业, 57(12): 11–13］

Gegear RJ, Laverty TM, 2005. Flower constancy in bumblebees: a test of the trait variability hypothesis. *Animal Behaviour*, 69(4): 939–949.

Gong ZJ, Zhou WW, Zhu ZR, Cheng JA, 2008. Advances in the studies of insect olfactory receptors. *Acta Entomologica Sinica*, 51(7): 761–768.［巩中军, 周文武, 祝增荣, 程家安, 2008. 昆虫嗅觉受体的研究进展. 昆虫学报, 51(7): 761–768］

Guan ZY, Wu YG, Yuan HB, Ren BZ, 2005. Research review of insect pollination mechanism. *Journal of Jilin Agricultural University*, 27(6): 608–613.［官昭瑛, 吴艳光, 袁海滨, 任炳忠, 2005. 昆虫访花机制研究概述. 吉林农业大学学报, 27(6): 608–613］

Harder LD, Jordan CY, Gross WE, Routley MB, 2004. Beyond floricentrism: the pollination function of inflorescences. *Plant Species Biology*, 19(3): 137–148.

Hill PSM, Hollis J, Wells H, 2001. Foraging decisions in nectarivores: unexpected interactions between flower constancy rewards. *Animal Behaviour*, 62(4): 729–737.

Hou D, 2014. Analysis of Floral Scent and Pigment Constituents and the Reflectance to Temperature Fluctuation in *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour. MSc Thesis, Zhejiang A&F University, Lin'an, Zhejiang.［侯丹, 2014. 桂花主要品种花香和花色及其对温度变化的响应. 浙江临安：浙江农林大学硕士学位论文］

Huang ET, Guo XX, Zhao TY, 2008. Research progress of the reaction mechanism in insect olfactory. *Acta Parasitologica et Medica Entomologica Sinica*, 15(2): 115–119.［黄恩炯, 郭晓霞, 赵彤言, 2008. 昆虫嗅觉反应机理的研究进展. 寄生虫与医学昆虫学报, 15(2): 115–119］

Huang SQ, Tang LL, Sun JF, Lu Y, 2006. Pollinator response to female and male floral display in a monoecious species and its implications for the evolution of floral dimorphism. *New Phytologist*, 171(2): 417–424.

Johnson SD, Peter CI, Agren J, 2004. The effects of nectar addition on pollen removal and geitonogamy in the non-rewarding orchid *Anacamptis morio*. *Proc. Biol. Sci.*, 271(1541): 803–809.

Johnson SG, Delph LF, Elderkin CL, 1995. The effect of petal-size manipulation on pollen removal, seed set, and insect-visitor behavior in *Campanula americana*. *Oecologia*, 102(2): 174–179.

Kong Y, Sun M, Pan HT, Zhang QX, 2012. Advances in metabolism and regulation of floral scent. *Journal of Beijing Forestry University*, 34(2): 146–154.［孔滢, 孙明, 潘会堂, 张启翔, 2012. 花香代谢与调控研究进展. 北京林业大学学报, 34(2): 146–154］

Kunze J, Gumbert A, 2001. The combined effect of color and odor on flower choice behavior of bumble bees in flower mimicry systems. *Behavioral Ecology*, 12(4): 447–456.

Laloi D, Roger B, Blight MM, Wadhams LJ, Pham-Delègue MH, 1999. Individual learning ability and complex odor recognition in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Journal of Insect Behavior*, 12(5): 585–597.

Liu EQ, Zhang ZR, Deng YY, Zhou L, He AJ, Li ZR, Zhang Q, Qiu MH, 2014. Chemical constituents of essential oil from *Dendranthema lijiangensis* by GC-MS. *Guihaia*, 34(5): 706–709.［刘恩乾, 张枝润, 邓媛元, 周琳, 和爱军, 李忠荣, 张弢, 邱明华, 2014. 雪菊挥发性成分的 GC-MS 分析. 广西植物, 34(5): 706–709］

Luo C, Huang ZY, Li K, Chen X, Chen Y, Sun Y, 2013. EAG responses of *Apis cerana* to floral compounds of a biodiesel plant, *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *Journal of Economic Entomology*, 106(4): 1653–1658.

Qin JD, Wang CZ, 2001. The theory of interaction and evolution of the relationship between insects and plants. *Acta Entomologica Sinica*, 44(3): 360–365.［钦俊德, 王琛柱, 2001. 论昆虫与植物的相互作用和进化的关系. 昆虫学报, 44(3): 360–365］

Schmidt HW, Brasse D, Künast C, Mühlen W, von der Ohe W, Tornier I, Wallner K, 2003. Introduction of indices for the evaluation of tent tests and field tests with honeybees. *Bulletin of Insectology*, 56(1): 111–117.

Shi HY, Wu J, Li JL, An JD, 2008. Foraging preference of the bumblebee *Bombus hypocrita* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 51(9): 946–952.［施海燕, 吴杰, 李继莲, 安建东, 2008. 小峰熊蜂访花偏爱性. 昆虫学报, 51(9): 946–952］

Si A, Zhang SW, Maleszka R, 2005. Effects of caffeine on olfactory and visual learning in honey bee (*Apis mellifera*). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 82(4): 664–672.

Song HL, Zhou T, Wang Q, Dai PL, Luo QH, Xu SF, Wu YY, 2011. Effects of sublethal doses of insecticides on the olfactory sensitivity of the honeybee (*Apis mellifera ligustica*). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(3): 611–615.［宋怀磊, 周婷, 王强, 代平礼, 罗其花, 徐书法, 吴艳艳, 2011. 亚致死剂量杀虫剂对意蜂工

蜂嗅觉敏感性的影响. 应用昆虫学报, 48(3): 611 - 615]

Sun JF, Gong YB, Renner SS, Huang SQ, 2008. Multifunctional bracts in the dove tree *Davidia involucrata* (Nyssaceae: Cornales): rain protection and pollinator attraction. *American Naturalist*, 171(1): 119 - 124.

Thomson JD, 1986. Pollen transport and deposition by bumble bees in *Erythronium*: influences of floral nectar and bee grooming. *Journal of Ecology*, 74(2): 329 - 341.

Thomson JD, Maddison WP, Plowright RC, 1982. Behavior of bumble bee pollinators of *Aralia hispida* Vent. (Araliaceae). *Oecologia*, 54(3): 326 - 336.

Toufailia HA, Couvillon MJ, Ratnieks FLW, Grüter C, 2013. Honey bee waggle dance communication: signal meaning and signal noise affect dance follower behaviour. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67(4): 549 - 556.

Wadhams LJ, Blight MM, Kerguelen V, Le Metayer M, Marion-Poll F, Masson C, Pham-Delegue MH, Woodcock CM, 1994. Discrimination of oilseed rape volatiles by honey bee: novel combined gas chromatographic-electrophysiological behavioral assay. *Journal of Chemical Ecology*, 20(12): 3221 - 3231.

Wang W, Liu Y, Guo WM, Dai HG, 2008. Olfactory and electroantennal response of *Apis mellifera* L. to essential oil components of chrysanthemum with small flower type. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 31(4): 73 - 76. [王伟, 刘勇, 郭维明, 戴华国, 2008. 西方蜜蜂对不同小菊品种花冠精油的嗅觉和触角电位反应. 南京农业大学学报, 31(4): 73 - 76]

Wang YC, Chen WW, Hu ZW, Dong SH, Liu XW, Tan K, 2013. Memory of association between odor and color about *Apis cerana*. *Journal of Bee*, 33(11): 1 - 3. [王钰冲, 陈伟文, 胡宗文, 董诗浩, 刘晰文, 谭垦, 2013. 东方蜜蜂(*Apis cerana*)对气味和颜色选择的联想记忆. 蜜蜂杂志, 33(11): 1 - 3]

Wang Z, Tan K, 2014. Comparative analysis of olfactory learning of *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Apidologie*, 45(1): 45 - 52.

Wanner KW, Nichols AS, Walden KKO, Brockmann A, Luetje CW, Robertson HM, 2007. A honey bee odorant receptor for the queen substance 9-oxo-2-decenoic acid. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(36): 14383 - 14388.

Wright GA, Kottcamp SM, Thomson MGA, 2008. Generalization mediates sensitivity to complex odor features in the honeybee. *PLoS ONE*, 3(2): e1704.

Wright GA, Skinner BD, Smith BH, 2002. Ability of honeybee, *Apis mellifera*, to detect and discriminate odors of varieties of canola (*Brassica rapa* and *Brassica napus*) and snapdragon flowers (*Antirrhinum majus*). *Journal of Chemical Ecology*, 28(4): 721 - 740.

(责任编辑: 袁德成)